



**PCT**  
WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM  
Internationales Büro  
INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE  
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

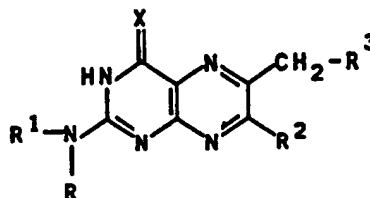
<p>(51) Internationale Patentklassifikation <sup>6</sup> : <b>A61K 31/505</b></p>	<p><b>A1</b></p>	<p>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: <b>WO 95/31987</b></p> <p>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 30. November 1995 (30.11.95)</p>
<p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP95/01731</p> <p>(22) Internationales Anmeldedatum: 6. Mai 1995 (06.05.95)</p> <p>(30) Prioritätsdaten: P 44 18 096.9      24. Mai 1994 (24.05.94)      DE</p> <p>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): HOECHST AKTIENGESellschaft [DE/DE]; Brüningstrasse 50, D-65929 Frankfurt am Main (DE).</p> <p>(72) Erfinder; und</p> <p>(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): PFLEIDERER, Wolfgang [DE/DE]; Lindauer Strasse 47, D-78464 Konstanz (DE). SCHMIDT, Harald [DE/DE]; Lorettoweg 19, D-97337 Dettelbach (DE). HENNING, Rainer [DE/JP]; Sannencho Building 3F, 40-17, Nishihara 3-chome, Shibuya-ku, Tokyo 151 (JP).</p> <p>(74) Anwalt: MULEY, Ralf; Hoechst Aktiengesellschaft, Werk Cassella, Hanauer Landstrasse 526, D-60386 Frankfurt am Main (DE).</p>		<p>(81) Bestimmungsstaaten: CA, JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p><b>Veröffentlicht</b> <i>Mit internationalem Recherchenbericht. Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist. Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.</i></p>

(54) Title: USE OF PTERIDINE DERIVATIVES AS NO-SYNTHASE INHIBITORS

(54) Bezeichnung: VERWENDUNG VON PTERIDIN-DERIVATEN ALS HEMMSTOFFE DER NO-SYNTHASE

(57) Abstract

The present invention relates to the use of pteridine derivatives of general formula (I) in which X is O, NH or N-(C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>)-alkanoyl, R<sup>3</sup> is the radical -OR<sup>4</sup>, -NH<sup>5</sup>R<sup>6</sup> or -S(O)<sub>m</sub>R<sup>7</sup> and R, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup> and m have the meanings given in claim 1, which are NO-synthase inhibitors, for the treatment of diseases caused by a high nitrogen monoxide level.



(I)

(57) Zusammenfassung

Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung von Pteridin-Derivaten der allgemeinen Formel (I), in der X für O, NH oder N-(C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>)-Alkanoyl steht, R<sup>3</sup> für den Rest -OR<sup>4</sup>, -NR<sup>5</sup>R<sup>6</sup> oder -S(O)<sub>m</sub>R<sup>7</sup> steht und R, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup> und m die im Anspruch 1 angegebenen Bedeutungen haben, die Hemmstoffe der Stickstoffmonoxid-Synthase sind, zur Behandlung von Krankheiten, die durch einen erhöhten Stickstoffmonoxid-Spiegel bedingt sind.

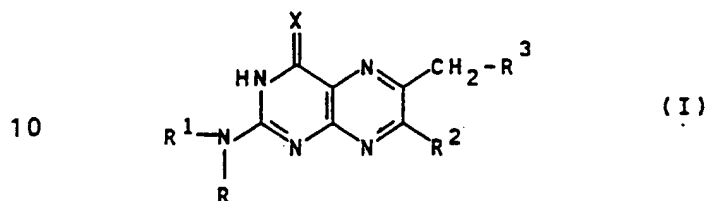
# **LEDIGLICH ZUR INFORMATION**

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AT	Österreich	GA	Gabon	MR	Mauretanien
AU	Australien	GB	Vereinigtes Königreich	MW	Malawi
BB	Barbados	GE	Georgien	NE	Niger
BE	Belgien	GN	Guinea	NL	Niederlande
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	NO	Norwegen
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	NZ	Neuseeland
BJ	Benin	IE	Irland	PL	Polen
BR	Brasilien	IT	Italien	PT	Portugal
BY	Belarus	JP	Japan	RO	Rumänien
CA	Kanada	KE	Kenya	RU	Russische Föderation
CF	Zentrale Afrikanische Republik	KG	Kirgisistan	SD	Sudan
CG	Kongo	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SE	Schweden
CH	Schweiz	KR	Republik Korea	SI	Slowenien
CI	Côte d'Ivoire	KZ	Kasachstan	SK	Slowakei
CM	Kamerun	LI	Liechtenstein	SN	Senegal
CN	China	LK	Sri Lanka	TD	Tschad
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	TG	Togo
CZ	Tschechische Republik	LV	Lettland	TJ	Tadschikistan
DE	Deutschland	MC	Monaco	TT	Trinidad und Tobago
DK	Dänemark	MD	Republik Moldau	UA	Ukraine
ES	Spanien	MG	Madagaskar	US	Vereinigte Staaten von Amerika
FI	Finnland	ML	Mali	UZ	Usbekistan
FR	Frankreich	MN	Mongolei	VN	Vietnam

1     **Verwendung von Pteridin-Derivaten als Hemmstoffe der  
NO-Synthase**

5     Die vorliegende Erfindung betrifft Pteridin-Derivate der  
allgemeinen Formel I,



15     die aufgrund ihrer Fähigkeit zur Modulation der körper-  
eigenen Stickstoffmonoxid-Produktion wertvolle Arznei-  
mittel zur Vorbeugung und Bekämpfung von Krankheitszu-  
ständen sind, die durch einen gestörten Stickstoffmon-  
oxid-Spiegel gekennzeichnet sind.

20     Stickstoffmonoxid (NO) spielt in verschiedensten physio-  
logischen Prozessen eine bedeutende Rolle (siehe z.B.  
R.Henning, Nachr. Chem. Tech. Lab.41 (1993), 413;  
H.H.H.W.Schmidt et al., Biochim. Biophys. Acta 1178  
(1993), 153). Es wirkt z.B. relaxierend auf die glatte  
25     Gefäßmuskulatur und ist auf diese Weise maßgeblich an der  
Regulierung des Blutdrucks beteiligt, es steuert über  
eine Hemmung der Thrombocytenaggregation die Blutgerin-  
nung, und es ist beispielsweise im Gehirn als Neurotrans-  
mitter in den Aufbau des Langzeitgedächtnisses invol-  
viert. In den NANC-Nerven des peripheren Nervensystems  
30     fungiert NO ebenfalls als Botenstoff. Die zelltoxische  
Wirkung des NO wird von Macrophagen für die Infektions-  
abwehr ausgenutzt.

1

Endogenes NO wird mit Hilfe mindestens drei verschiedener NO-Synthase-Isoenzyme aus Arginin gebildet (siehe z.B. J.F.Kerwin Jr. und M.Heller, Med. Res. Rev. 14 (1994), 23). Sie unterscheiden sich bezüglich ihrer Lokalisation im Organismus, ihrer Regulierbarkeit durch  $\text{Ca}^{2+}$ /Calmodulin sowie ihrer Induzierbarkeit durch Endotoxine und Cytokine. Die konstitutiven, calciumabhängigen NO-Synthasen finden sich beispielsweise in Endothel (Typ III) und im Gehirn (Typ I) und sind dort in die Regulation von Blutdruck und -gerinnung bzw. in Reizleitungsprozesse involviert. Die cytokin-induzierbare, calciumunabhängige Isoform (Typ II) tritt in Macrophagen, Glattmuskelzellen und Hepatocyten auf. Sie ist in der Lage, über einen langen Zeitraum relativ große Mengen NO zu produzieren und wird für entzündliche Prozesse und die zelltoxische Aktivität der Macrophagen verantwortlich gemacht.

Ein gestörter NO-Haushalt hat schwerwiegende Erkrankungen und Schädigungen zur Folge. So führt die exzessive Bildung von NO im septischen oder hämorrhagischen Schock zu massiven pathologischen Blutdruckabfällen. Übersteigerte NO-Produktion ist an der Entstehung von Typ-1-Diabetes und Atherosklerose beteiligt und scheint auch für die glutamatinduzierte Neurotoxizität nach cerebraler Ischämie verantwortlich zu sein. Hohe NO-Konzentrationen können darüberhinaus durch Desaminierung von Cytosin zu DNA-Schädigungen führen. Beispiele für Erkrankungen, die durch einen Mangel an endogenem NO mittelbar oder unmittelbar hervorgerufen werden, sind arterieller Bluthochdruck, Störungen der Hämostase, koronare Herzkrankheit und die erektile Dysfunktion.

Der Ansatz, eine Modulation der NO-Produktion zur Be-

35

1 handlung dieser Krankheitsbilder zu verwenden, wurde bis-  
lang nur mit Hilfes von Arginin-Analoga realisiert.  
(GB-A-2240041; WO-A-93/13055). Als weitere potentielle  
5 NO-Synthase-Hemmstoffe werden in der Literatur N-Imino-  
ethylornithin (McCall et al, Br. J. Pharmacol.102 (1991),  
234), Aminoguanidin (T.P.Misko et al, Eur. J. Pharmacol.  
233 (1993), 119; EP-A-547588) und 7-Nitroindazol  
(P.K.Moore et al, Br.J.Pharmacol. 108 (1993), 296) disku-  
tiert.

10

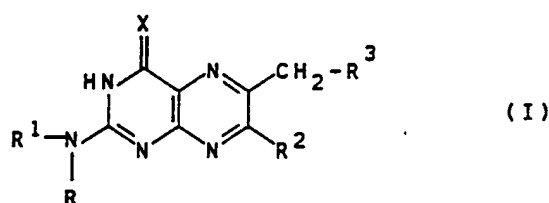
Verschiedene Pteridin-Derivate kommen in der Natur vor,  
und auch Verwendungen von Pteridin-Derivaten als Pharma-  
Wirkstoffe sind beschrieben. Das Zytostatikum Methotrexat  
ist ein Pteridin-Derivat. In der EP-B-290819 ist die Ver-  
15 wendung von Pteridinen, darunter auch solchen der allge-  
meinen Formel I, in denen R<sup>3</sup> für Hydroxy steht, für die  
Behandlung kognitiver Pathologien offenbart. Für Unter-  
suchungen an der NO-Synthase, die sich mit mechanisti-  
schen Fragestellungen beschäftigten, wurden bislang  
20 vor allem hydrierte Pteridin-Derivate verwendet (siehe  
z.B. Kwon et al. (J. Biol. Chem. 264 (1989), 20496)  
oder Giovanelli et al. (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88  
(1991), 7091)). Danach stimuliert Tetrahydrobiopterin die  
NO-Produktion und ist ein Cofaktor der NO-Synthasen. Eine  
25 Stimulation der NO-Produktion wurde auch für das 7,8-Di-  
hydrobiopterin gefunden. Über eine Erhöhung der NO-Syn-  
thase-Aktivität durch 6-Methyl-5,6,7,8-tetrahydropterin  
berichten Hevel und Marletta (Biochemistry 31 (1992),  
7160). Nicht hydrierte Pteridine, wie etwa Biopterin,  
30 Pterin, Folsäure oder 6-Hydroxymethylpterin zeigten in  
solchen Untersuchungen keine signifikanten Effekte (Kwon  
et al., J. Biol. Chem. 264 (1989), 20496).

35

1 Überraschend wurde nun gefunden, daß Pteridin-Derivate  
 der allgemeinen Formel I insbesondere hemmend die endoge-  
 ne NO-Produktion modulieren und somit als Arzneimittel  
 bei Krankheiten geeignet sind, die durch einen überhöhten  
 5 NO-Spiegel charakterisiert sind.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist die Verwendung  
 von Pteridin-Derivaten der allgemeinen Formel I,

10



15

in der

X für O, NH oder N-(C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>)-Alkanoyl steht;

R für Wasserstoff steht und

20 R<sup>1</sup> für Wasserstoff oder (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>)-Alkanoyl steht oder  
 R und R<sup>1</sup> zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie  
 gebunden sind, eine Dimethylaminomethylenaminogruppe  
 bilden;

25 R<sup>2</sup> für Wasserstoff, Methyl, Phenyl, Hydroxy, Methoxy  
 oder Amino steht;

R<sup>3</sup> für den Rest -OR<sup>4</sup>, -NR<sup>5</sup>R<sup>6</sup> oder -S(O)<sub>m</sub>R<sup>7</sup>, wobei m für  
 die Zahlen 0, 1 oder 2 steht, steht;

30 R<sup>4</sup> für Wasserstoff, (C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>)-Alkyl, Cyclohexyl, Benzyl,  
 unsubstituiertes oder durch Chlor oder den Rest  
 -COR<sup>8</sup> substituiertes Phenyl, unsubstituiertes oder am  
 Stickstoff durch einen oder zwei gleiche oder ver-  
 schiedene (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-Alkylreste substituiertes Amino-

35

- 1 carbonylmethyl, 2-Methoxyethyl, den (2,2-Dimethyl-  
1,3-dioxolan-4-yl)methyl-Rest oder den Rest  $-\text{COR}^9$   
steht;
- 5  $\text{R}^5$  für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, 2-Hydroxyethyl,  
2-Chlorethyl, Benzyl, Pyridylmethyl, Phenylethyl,  
Pyridylethyl oder Acetyl steht;
- 10  $\text{R}^6$  unabhängig von der Bedeutung von  $\text{R}^5$  für die für  $\text{R}^5$   
angegebenen Bedeutungen steht oder, wenn  $\text{R}^5$  für  
Wasserstoff oder Methyl steht, auch für Cyclohexyl,  
3-(2-Ethoxyethoxy)propyl, Benzyl, das am Phenylring  
ein oder zwei Chloratome oder den Rest  $-\text{COR}^{10}$  trägt,  
( $\text{C}_1-\text{C}_5$ )-Alkanoyl, den Rest  $-\text{COR}^{10}$  oder den Rest  
 $-(\text{CH}_2)_4-\text{COR}^{10}$  steht;
- 15  $\text{R}^7$  für ( $\text{C}_1-\text{C}_4$ )-Alkyl, Benzyl, unsubstituiertes oder  
durch Chlor, den Rest  $-\text{COR}^8$  oder den Rest  $-\text{CO}-\text{O}-\text{CO}-$   
 $-(\text{C}_1-\text{C}_4)$ -Alkyl substituiertes Phenyl oder für  
Naphthyl steht;
- $\text{R}^8$  für Hydroxy, Methoxy, Amino oder  $\text{R}^{10}$  steht;
- 20  $\text{R}^9$  für ( $\text{C}_1-\text{C}_4$ )-Alkyl, Hydroxymethyl, Trifluormethyl,  
( $\text{C}_1-\text{C}_2$ )-Alkoxy oder  $\text{R}^{11}$  steht;
- $\text{R}^{10}$  für den Rest
- $$\begin{array}{c} \text{COR}^{12} \\ | \\ -\text{NH}-\text{CH}-(\text{CH}_2)_2-\text{COR}^{12} \end{array} \quad \text{steht;}$$
- 25  $\text{R}^{11}$  für den Rest
- $$\begin{array}{c} -\text{CH}-\text{NHR}^{14} \\ | \\ \text{R}^{13} \end{array} \quad \text{steht;}$$
- 30  $\text{R}^{12}$  für Hydroxy oder ( $\text{C}_1-\text{C}_2$ )-Alkoxy steht;  
 $\text{R}^{13}$  für ( $\text{C}_1-\text{C}_4$ )-Alkyl oder Benzyl steht;  
 $\text{R}^{14}$  für Wasserstoff oder Benzyloxycarbonyl steht;  
und ihrer tautomeren Formen sowie ihrer pharmakologisch

- 1    verträglichen Salze zur Vorbeugung und Behandlung von  
Krankheiten, die durch einen erhöhten Stickstoffmonoxid-  
Spiegel bedingt sind.
- 5    Alkylgruppen können geradkettig oder verzweigt sein. Dies  
gilt auch, wenn sie in anderen Gruppen, beispielsweise in  
Alkoxy-, Alkylmercapto-, Alkoxycarbonyl- oder Alkanoyl-  
gruppen auftreten. Beispiele für Alkylgruppen, die in den  
erfindungsgemäß zu verwendenden Verbindungen der allge-  
10    meinen Formel als solche, also als (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)- oder  
(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>)-Alkyl, oder in anderen Gruppen auftreten können,  
sind Methyl, Ethyl, n-Propyl, i-Propyl-, n-Butyl, i-Bu-  
tyl, sek-Butyl, tert-Butyl, n-Pentyl, 3-Methylbutyl,  
2,2-Dimethylpropyl, n-Hexyl, n-Heptyl, n-Octyl, n-Nonyl  
15    oder n-Decyl. Beispiele speziell für (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>)-Alkanoyl  
sind Formyl, Acetyl, Propionyl, n-Butyryl, i-Butyryl, n-  
Valeroyl, 3-Methyl-n-butyryl oder 2,2-Dimethylpropionyl,  
Beispiele für (C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)-Alkoxy sind Methoxy und Ethoxy.
- 20    Ein Pyridylrest kann ein 2-Pyridyl-, 3-Pyridyl- oder 4-  
Pyridylrest sein, bevorzugt ist er ein 2-Pyridylrest. Ein  
Phenylrest, der einen Substituenten trägt, kann diesen in  
der 2-, der 3- oder der 4-Position tragen. Bevorzugt sind  
die 3- und die 4-Position, besonders bevorzugt ist die  
25    4-Position. Trägt der Phenylrest zwei Substituenten, so  
können diese beispielsweise 2,3-, 2,4-, 3,4- oder 3,5-  
ständig sein. Bevorzugt sind sie 2,4- oder 3,4-ständig.  
Ein Naphthylrest kann ein 1-Naphthyl- oder 2-Naphthylrest  
sein, bevorzugt ist ein 2-Naphthylrest. In Phenylethyl-  
30    und Pyridylethylresten kann der Phenyl- bzw. Pyridylrest  
1-ständig oder 2-ständig sein, bevorzugt ist er 2-stän-  
dig.

Die Verbindungen der allgemeinen Formel I können in ver-  
35    schiedenen tautomeren Formen und in verschiedenen stereo-



- 1 isomeren Formen vorliegen. Die vorliegende Erfindung  
umfaßt nicht nur die Verwendung aller tautomeren Formen,  
sondern auch die aller stereoisomeren Formen, also z.B.  
die von reinen Enantiomeren, von Enantiomerengemischen  
5 und Racematen, von reinen Diastereomeren und Diastereo-  
merengemischen.

X steht bevorzugt für O oder NH.

- 10 Bevorzugt steht R für Wasserstoff:

R<sup>1</sup> steht bevorzugt für Wasserstoff.

- R<sup>2</sup> steht bevorzugt für Wasserstoff. Steht R<sup>2</sup> für (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>)-  
15 Alkanoyl, so sind Acetyl, i-Butyryl und Pivaloyl bevor-  
zugt.

- R<sup>3</sup> steht bevorzugt für (C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>)-Alkyloxy, Phenyloxy,  
Amino, Methylamino, Dimethylamino oder für den Rest  
20 -COR<sup>11</sup>. Besonders bevorzugt steht R<sup>3</sup> für (C<sub>5</sub>-C<sub>10</sub>)-Alkyl-  
oxy, Amino oder den Rest -COR<sup>11</sup>, wobei das in R<sup>11</sup> ent-  
haltene R<sup>14</sup> für Benzyloxycarbonyl steht und das in R<sup>11</sup>  
enthaltene R<sup>13</sup> für Methyl, Isopropyl oder Benzyl steht.

- 25 Die Verbindungen der allgemeinen Formel I sind bekannt  
und können nach oder analog zu bekannten Verfahren her-  
gestellt werden. Synthesemethoden für Pteridin-Derivate  
der allgemeinen Formel I sind z.B. die Methode von  
Gabriel-Isay oder die Taylor-Methode (siehe z.B.  
30 D.J.Brown, Fused Pyrimidines III, Pteridines (E.C. Taylor  
und A. Weissberger (Ed.), Wiley & Sons, New York)). Im  
einzelnen ist die Herstellung von Verbindungen der allge-  
meinen Formel I z.B. beschrieben in der EP-A-108 890, in  
der Dissertationsschrift von Hermann Michael Traub  
35 (Dissertation der Universität Konstanz, Deutschland

1 (1987)), oder in J. Med. Chem. 30 (1987), 40.

Die erfindungsgemäß zu verwendenden Verbindungen der  
allgemeinen Formel I können mit anorganischen oder orga-  
5 nischen Säuren Salze bilden. Geeignete Säuren für die  
Bildung pharmakologisch annehmbarer Säureadditionssalze  
sind beispielsweise: Chlorwasserstoff, Bromwasserstoff,  
Naphthalindisulfonsäuren, insbesondere Naphthalindisul-  
fonsäure(1,5), Phosphor-, Salpeter-, Schwefel-, Oxal-,  
10 Milch-, Wein-, Essig-, Salicyl-, Benzoe-, Ameisen-, Pro-  
pion-, Pivalin-, Diethylelessig-, Malon-, Bernstein-,  
Pimelin-, Fumar-, Malein-, Apfel-, Sulfamin-, Phenylpro-  
pion-, Glucon-, Ascorbin-, Isonicotin-, Methansulfon-,  
p-Toluolsulfon-, Zitronen- oder Adipinsäure. Die Verbin-  
15 dungen der allgemeinen Formel I können ein oder mehrere  
Säureäquivalente addieren. Die Säureadditionssalze können  
wie üblich durch Vereinigung der Komponenten, zweckmäßi-  
gerweise in einem geeigneten Lösungs- oder Verdünnungs-  
mittel, hergestellt werden. Durch Anionenaustausch können  
20 Säureadditionssalze ineinander überführt werden. Verbin-  
dungen der allgemeinen Formel I, die saure Gruppen ent-  
halten, können mit anorganischen oder organischen Basen  
Salze bilden. Beispielsweise für solche Salze sind z.B.  
Alkalimetallsalze, insbesondere Natrium- und Kaliumsalze,  
25 oder Ammoniumsalze, insbesondere solche mit organischen  
Resten am Ammoniumstickstoff.

Die Hemmung der NO-Freisetzung durch die Erfindungen der  
allgemeinen Formel I kann durch einen Aktivitätsassay  
30 bestimmt werden, der auf Arbeiten von Bredt und Snyder  
sowie Schmidt et al. basiert (s. D.S.Bredt und S.S.  
Snyder, Isolation of nitric oxide synthase, a calmodu-  
lin-requiring enzyme, Proc.Natl.Acad.Sci. USA 87 (1990),  
682; H.H.H.W.Schmidt et al., Purification of a soluble  
35 isoform of guanylyl cyclase-activating factor synthase,

- 1 Proc. Natl.Acad.Sci. USA 88 (1991), 365). Hierbei wird  
für gereinigte NO-Synthase (NOS) das bei der NO-Bildung  
anfallende Coprodukt L-Citrullin quantitativ erfaßt. Dies  
geschieht durch den Einsatz von <sup>3</sup>H-radiomarkiertem  
5 L-Arginin als Substrat der Enzymreaktion, das zu <sup>3</sup>H-L-  
Citrullin und NO umgesetzt wird. Nach Beendigung der  
Enzyminkubation wird entstandenes L-Citrullin von unver-  
brauchtem L-Arginin mittels Ionenaustauschchromatographie  
aus dem Reaktionsgemisch entfernt; die durch Flüssig-  
10 keitsszintillationsmessung ermittelte <sup>3</sup>H-Aktivität ent-  
spricht dann der Menge an L-Citrullin. Einzelheiten der  
Durchführung sind weiter unten angegeben.

Krankheiten, die durch einen erhöhten NO-Spiegel ent-  
15 stehen und die somit erfindungsgemäß mit den Verbindungen  
der allgemeinen Formel I behandelt werden können bzw.  
denen mit diesen vorgebeugt werden kann, sind insbeson-  
dere pathologische Blutdruckabfälle, wie sie beim septi-  
schen oder hämorrhagischen Schock, bei der Tumor- bzw.  
20 Krebstherapie mit Cytokinen oder bei der Leberzirrhose  
auftreten. Des weiteren entzündliche Erkrankungen, wie  
rheumatoide Arthritis und insbesondere Colitis ulcerosa,  
sowie Insulin-abhängiger Diabetes mellitus und Transplan-  
tat-Abstoßungsreaktionen.

25 Aber auch die folgenden Erkrankungen stehen im Zusammen-  
hang mit einer gesteigerten Produktion von Stickstoff-  
monoxid und können erfindungsgemäß behandelt bzw. vorge-  
beugt werden. Im Bereich Herz-Kreislauf sind dies Arte-  
riosklerose, postischämische Gewebeschäden und Infarkt-  
30 schäden, Reperfusionsschäden, Myokarditis auf der Grund-  
lage einer Cocksackie-Virus-Infektion und Kardiomyopathie;  
im Bereich Nervensystem/Zentrales Nervensystem Neuritiden  
unterschiedlicher Ätiogenese (Neuritisformen), Enzepha-  
lomyelitiden, virale neurodegenerative Erkrankungen,  
35 Morbus Alzheimer, Hyperalgesie, Epilepsie und Migräne,

- 1 wobei die Behandlung bzw. Vorbeugung des Morbus Alzheimer  
ausgenommen ist, wenn  $R^3$  in der allgemeinen Formel I für  
Hydroxy steht; im Bereich Niere akutes Nierenversagen  
sowie Nephritiden unterschiedlicher Ätiogenese, speziell  
5 Glomerulonephritis.

Außerdem sind auch Behandlungen im Bereich des Magens und  
des Uterus/der Plazenta sowie eine Beeinflussung der  
Motilität der Spermien Anwendungsgebiete für die Verbin-  
10 dungen der allgemeinen Formel I.

Die Verbindungen der allgemeinen Formel I und ihre phar-  
makologisch annehmbaren Salze können als Hilfsstoffe in  
biochemischen und pharmakologischen Untersuchungen in der  
15 Forschung und in Diagnoseverfahren eingesetzt werden, und  
sie können am Tier, bevorzugt am Säugetier, und insbeson-  
dere am Menschen als Heilmittel für sich allein, in Mi-  
schungen untereinander oder in Form von pharmazeutischen  
Zubereitungen verabreicht werden, die eine enterale oder  
20 parenterale Anwendung gestatten und die als aktiven Be-  
standteil eine wirksame Dosis mindestens einer Verbindung  
der allgemeinen Formel I oder eines Salzes davon, neben  
üblichen pharmazeutisch einwandfreien Träger- und Zusatz-  
stoffen, enthalten.

25 Die Heilmittel können oral, z.B. in Form von Pillen, Tab-  
letten, Lacktabletten, Dragees, Hart- und Weichgelatine-  
kapseln, Lösungen, Sirupen, Emulsionen oder Suspensionen  
oder Aerosolmischungen verabreicht werden. Die Verabrei-  
30 chung kann aber auch rektal, z.B. in Form von Supposito-  
rien, oder parenteral, z.B. in Form von Injektionslösun-  
gen oder Infusionslösungen, oder perkutan, z.B. in Form  
von Salben oder Tinkturen, erfolgen.

35 Die pharmazeutischen Präparate können neben den Wirk- und

1   Trägerstoffen noch Zusatzstoffe, wie z.B. Füllstoffe,  
Streck-, Spreng-, Binde-, Gleit-, Netz-, Stabilisie-  
rungs-, Emulgier-, Konservierungs-, Süß-, Färbe-, Ge-  
schmacks- oder Aromatisierungs-Mittel, Puffersubstanzen,  
5   ferner Lösungsmittel oder Lösungsvermittler oder Mittel  
zur Erzielung eines Depoteffekts, sowie Salze zur Ver-  
änderung des osmotischen Drucks, Überzugsmittel oder  
Antioxidantien enthalten. Sie können auch zwei oder meh-  
rere Verbindungen der allgemeinen Formel I oder ihrer  
10   pharmakologisch annehmbaren Salze und noch andere thera-  
peutisch wirksame Stoffe enthalten.

Derartige andere therapeutisch wirksame Substanzen sind  
beispielsweise:  $\beta$ -Rezeptorenblocker, wie z.B. Propran-  
15   olol, Pindolol, Metoprolol; Vasodilatoren, wie z.B.  
Carbocromen; Beruhigungsmittel, wie z.B. Barbitursäure-  
derivate, 1,4-Benzodiazepine und Meprobamat; Diuretica,  
wie z.B. Chlorothiazid; das Herz tonisierende Mittel, wie  
z.B. Digitalispräparate; blutdrucksenkende Mittel, wie  
20   z.B. Hydralazin, Dihydralazin, Ramipril, Prazosin, Cloni-  
din, Rauwolfia-Alkaloide; Mittel, die den Fettsäurespie-  
gel im Blut senken, wie z.B. Bezafibrat, Fenofibrat;  
Mittel für die Thromboseprophylaxe, wie z.B. Phenprocou-  
mon; entzündungshemmende Substanzen, wie etwa Cortico-  
25   steroiden, Salicylate oder Propionsäurederivate, wie bei-  
spielsweise Ibuprofen; Antibiotika, wie z.B. Penicilline  
oder Cephalosporine; NO-Donoren, wie z.B. organische  
Nitrate, Sydnonimine oder Furoxane.

30   Die Dosierung kann innerhalb weiter Grenzen variieren und  
ist in jedem einzelnen Fall den individuellen Gegebenhei-  
ten anzupassen. Im allgemeinen ist bei oraler Verabrei-  
chung pro menschlichem Individuum eine Tagesdosis von  
etwa 0,5 bis 100 mg, vorzugsweise 1 bis 20 mg, angemes-  
35   sen. Auch bei anderen Applikationsformen liegt die Tages-

1 dosis, in ähnlichen Mengenbereichen, d.h. im allgemeinen  
ebenfalls bei 0,5 bis 100 mg/Mensch. Die Tagesdosis kann  
in mehrere, z.B. 2 bis 4, Teilverabreichungen aufgeteilt  
werden.

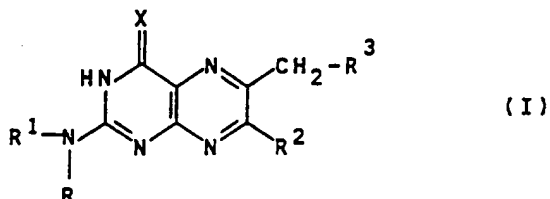
5

Zur Herstellung der pharmazeutischen Präparate können  
pharmazeutisch inerte anorganische oder organische Trä-  
gerstoffe verwendet werden. Für die Herstellung von Pil-  
len, Tabletten, Dragees und Hartgelatine kapseln kann man  
10 z.B. Lactose, Maisstärke oder Derivate davon, Talk, Stea-  
rinsäure oder deren Salze etc. verwenden. Trägerstoffe  
für Weichgelatine kapseln und Suppositorien sind z.B. Fet-  
te, Wachse, halbfeste und flüssige Polyole, natürliche  
oder gehärtete Öle etc. Als Trägerstoffe für die Herstel-  
15 lung von Lösungen und Sirupen eignen sich z.B. Wasser,  
Saccharose, Invertzucker, Glukose, Polyole etc. Als Trä-  
gerstoffe für die Herstellung von Injektionslösungen eig-  
nen sich z.B. Wasser, Alkohole, Glyzerin, Polyole oder  
pflanzliche Öle.

20

Für verschiedene Pteridin-Derivate der allgemeinen Formel  
I sind bisher keine pharmakologischen Wirkungen oder  
medizinischen Verwendungen bekannt gewesen. Für solche  
Verbindungen gibt die vorliegende Erfindung die erste  
25 medizinische Indikation an. Gegenstand der vorliegenden  
Erfindung sind auch Pteridin-Derivate der allgemeinen  
Formel I,

30



35

in der

- 1
- X für O, NH oder N-(C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>)-Alkanoyl steht;
- R für Wasserstoff steht und
- 5 R<sup>1</sup> für Wasserstoff oder (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>)-Alkanoyl steht oder  
R und R<sup>1</sup> zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie  
gebunden sind, eine Dimethylaminomethylenaminogruppe  
bilden;
- R<sup>2</sup> für Wasserstoff, Methyl, Phenyl, Hydroxy, Methoxy  
oder Amino steht;
- 10 R<sup>3</sup> für den Rest -OR<sup>4</sup>, -NR<sup>5</sup>R<sup>6</sup> oder -S(O)<sub>m</sub>R<sup>7</sup>, wobei m für  
die Zahlen 0, 1 oder 2 steht, steht;
- R<sup>4</sup> für Wasserstoff, (C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>)-Alkyl, Cyclohexyl, Benzyl,  
unsubstituiertes oder durch Chlor oder den Rest -COR<sup>8</sup>  
substituiertes Phenyl, unsubstituiertes oder am  
15 Stickstoff durch einen oder zwei gleiche oder ver-  
schiedene (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-Alkylreste substituiertes Amino-  
carbonylmethyl, 2-Methoxyethyl, den (2,2-Dimethyl-  
1,3-dioxolan-4-yl)methyl-Rest oder den Rest -COR<sup>9</sup>  
steht;
- 20 R<sup>5</sup> für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, 2-Hydroxyethyl,  
2-Chlorethyl, Benzyl, Pyridylmethyl, Phenylethyl,  
Pyridylethyl oder Acetyl steht;
- R<sup>6</sup> unabhängig von der Bedeutung von R<sup>5</sup> für die für R<sup>5</sup>  
angegebenen Bedeutungen steht oder, wenn R<sup>5</sup> für  
25 Wasserstoff oder Methyl steht, auch für Cyclohexyl,  
3-(2-Ethoxyethoxy)propyl, Benzyl, das am Phenylring  
ein oder zwei Chloratome oder den Rest -COR<sup>10</sup> trägt,  
(C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>)-Alkanoyl, den Rest -COR<sup>10</sup> oder den Rest  
-(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>-COR<sup>10</sup> steht;
- 30 R<sup>7</sup> für (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-Alkyl, Benzyl, unsubstituiertes oder  
durch Chlor, den Rest -COR<sup>8</sup> oder den Rest  
-CO-O-CO-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-Alkyl substituiertes Phenyl oder für  
Naphthyl steht;
- R<sup>8</sup> für Hydroxy, Methoxy, Amino oder R<sup>10</sup> steht;
- 35 R<sup>9</sup> für (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-Alkyl, Hydroxymethyl, Trifluormethyl,

1 (C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)-Alkoxy oder R<sup>11</sup> steht;  
R<sup>10</sup> für den Rest

5 
$$\begin{array}{c} \text{COR}^{12} \\ | \\ -\text{NH}-\text{CH}-(\text{CH}_2)_2-\text{COR}^{12} \end{array} \text{ steht;}$$

R<sup>11</sup> für den Rest

10 
$$\begin{array}{c} -\text{CH}-\text{NHR}^{14} \\ | \\ \text{R}^{13} \end{array} \text{ steht;}$$

R<sup>12</sup> für Hydroxy oder (C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)-Alkoxy steht;

R<sup>13</sup> für (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-Alkyl oder Benzyl steht;

R<sup>14</sup> für Wasserstoff oder Benzyloxycarbonyl steht;

15 und ihrer tautomeren Formen sowie ihrer pharmakologisch  
verträglichen Salze, wobei aber Verbindungen der allge-  
meinen Formel I, in der R<sup>3</sup> für Hydroxy steht, ausge-  
schlossen sind, als pharmakologische Wirkstoffe. Für  
bevorzugte solche Pteridin-Derivate gilt das oben Gesagte  
entsprechend.

20

Die folgenden Beispiele geben Verbindungen der allgemei-  
nen Formel I an, die erfindungsgemäß eingesetzt werden  
können. In den Beispielen werden folgende Abkürzungen  
verwendet:

25

Me = Methyl

Et = Ethyl

iPr = Isopropyl

iBu = Isobutyl

30 tBu = tert-Butyl

Ph = Phenyl

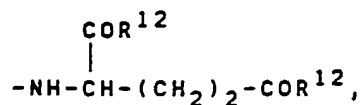
Py = 2-Pyridyl

Z = Benzyloxycarbonyl

35



- 1 Ph-4-COOH, Ph-4-Cl und entsprechende Angaben bedeuten  
einen Phenylrest, der in der 4-Position durch den Rest  
-COOH bzw. durch Chlor bzw. durch die im jeweiligen  
Beispiel angegebene Gruppe substituiert ist. R<sup>10a</sup>, R<sup>10b</sup>  
5 und R<sup>10c</sup> stehen für den Rest der Formel



- 10 wobei im Fall R<sup>10a</sup> der Rest R<sup>12</sup> für Hydroxy, im Fall R<sup>10b</sup>  
der Rest R<sup>12</sup> für Ethoxy und im Fall R<sup>10c</sup> der Rest R<sup>12</sup> für  
Methoxy steht.

- R<sup>a</sup> steht für den (2,2-Dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)methyl-  
15 Rest (D-Form).

In den Beispielen Nr. 1 bis 109 steht R in der allgemei-  
nen Formel I für Wasserstoff.

20

25

30

35

1	Nr.	X	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>
5	1	O	H	H	OH
	2	O	tBuCO	H	OH
	3	O	H	OH	OMe
	4	O	H	H	OH
	5	O	H	H	OEt
10	6	O	H	H	OiPr
	7	O	H	H	OiBu
	8	O	H	H	OtBu
	9	O	H	H	OPh
	10	O	H	H	O-(Ph-4-COOH)
15	11	O	H	H	O-(Ph-4-COOMe)
	12	O	H	H	O-(Ph-4-COR <sup>10a</sup> )
	13	O	H	H	O-n-Octyl
	14	O	H	H	O-n-Decyl
	15	O	H	H	OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OMe
20	16	O	H	H	OCOMe
	17	O	MeCO	H	OCOMe
	18	O	H	H	OCOtBu
	19	O	tBuCO	H	OCOtBu
	20	O	H	H	OCOCH <sub>2</sub> OH
25	21	O	H	H	OCOCH(Me)-NHZ
	22	O	H	H	OCOCH(iPr)-NHZ
	23	O	H	H	OCOCH(CH <sub>2</sub> Ph)-NHZ
	24	O	H	H	OCOCF <sub>3</sub>
	25	O	H	H	OCOOEt
30	27	O	H	H	NHMe
	28	O	H	H	NMe <sub>2</sub>
	29	O	H	H	NH-CH <sub>2</sub> -(Ph-4-COR <sup>10a</sup> )
	30	O	H	H	NH-CH <sub>2</sub> -(Ph-4-COR <sup>10b</sup> )

1					
	Nr.	X	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>
5	31	O	tBuCO	H	N(Me)-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -Py
	32	O	tBuCO	H	N(CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -Py) <sub>2</sub>
	33	O	tBuCO	H	N(CH <sub>2</sub> -Py) <sub>2</sub>
	34	O	H	H	N(CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -OH) <sub>2</sub>
	35	O	H	H	N(CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -Cl) <sub>2</sub>
10	36	O	H	H	NH-COR <sup>10a</sup>
	37	O	H	H	SMe
	38	O	H	H	SEt
	39	O	H	H	S-n-Propyl
	49	O	H	H	S-n-Butyl
15	41	O	H	H	S-(Ph-4-CO-O-COiBu)
	42	O	H	H	S-(Ph-4-COOH)
	43	O	H	H	S-(Ph-4-COOMe)
	44	O	H	H	S-(Ph-4-COR <sup>10a</sup> )
	45	O	H	H	S-(Ph-4-COR <sup>10b</sup> )
20	46	O	H	H	S(O) <sub>2</sub> Me
	47	O	tBuCO	H	S(O) <sub>2</sub> Me
	48	NH	H	H	OH
	49	NH	H	Me	OH
	50	NH	H	OMe	OH
25	51	NH	H	OH	OH
	52	NH	H	H	OMe
	53	NH	H	H	OEt
	54	NH	H	H	O-n-Propyl
	55	NH	H	H	OiPr
30	56	NH	H	H	O-n-Butyl
	57	NH	H	H	OiBu
	58	NH	H	H	OtBu
	59	NH	H	H	O-n-Octyl
	60	NH	H	H	O-n-Decyl

1	Nr.	X	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>
5	61	NH	H	H	OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OMe
	62	NH	H	H	O-Cyclohexyl
	63	NH	H	H	O-CH <sub>2</sub> Ph
	64	NH	H	H	OPh
	65	NH	H	H	O-(Ph-4-Cl)
10	66	NH	H	H	O-(Ph-4-COOH)
	67	NH	H	H	O-(Ph-4-CONH <sub>2</sub> )
	68	NH	H	H	O-(Ph-4-COR <sup>10a</sup> )
	69	NH	H	H	O-(Ph-4-COR <sup>10b</sup> )
	70	NH	H	H	O-R <sup>a</sup>
15	71	NH	H	H	OCOMe
	72	NH	COMe	H	OCOMe
	73	NH	H	H	OCOCH <sub>2</sub> OH
	74	NH	H	H	OCOCH(Me)-NHZ
	75	NH	H	H	OCH <sub>2</sub> CONEt <sub>2</sub>
20	76	NH	H	H	NH <sub>2</sub>
	77	NH	H	H	NHMe
	78	NH	H	H	NMe <sub>2</sub>
	79	NH	H	NH <sub>2</sub>	NMe <sub>2</sub>
	80	NH	H	H	NEt <sub>2</sub>
25	81	NH	H	H	NH-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> Ph
	82	NH	H	H	NH-CH <sub>2</sub> (Ph-4-COR <sup>10a</sup> )
	83	NH	H	H	NH-CH <sub>2</sub> (Ph-4-COR <sup>10b</sup> )
	84	NH	H	H	N(Me)-(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> -COR <sup>10a</sup>
	85	NH	H	H	N(Me)-(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> -COR <sup>10b</sup>
30	86	NH	H	H	N(Me)-(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> -COR <sup>10c</sup>
	87	NH	H	H	NH-CH <sub>2</sub> -(2,4-Dichlorophenyl)
	88	NH	H	H	NH-CH <sub>2</sub> -(3,4-Dichlorophenyl)
	89	NH	H	H	NH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -O-(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -OEt
	90	NH	H	H	NH-Cyclohexyl

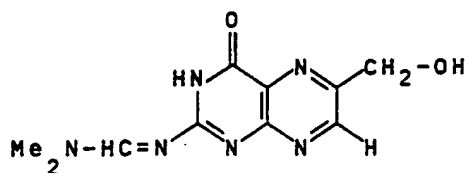
1

Nr.	X	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>
5 91	NH	H	H	N(CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -OH) <sub>2</sub>
92	NH	H	H	N(CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -Cl) <sub>2</sub>
93	NH	H	H	NH-CO <sub>i</sub> Pr
94	NH	H	H	SMe
95	NH	H	H	SCH <sub>2</sub> Ph
10 96	NH	H	H	SPh
97	NH	H	H	S-(Ph-4-COOH)
98	NH	H	H	S-(Ph-4-COOMe)
99	NH	H	H	S-(Ph-4-COOEt)
100	NH	H	H	S-(Ph-4-Cl)
15 101	NH	H	H	S(O)-(Ph-4-Cl)
102	NH	H	H	S(O) <sub>2</sub> -(Ph-4-Cl)
103	NH	H	H	S-(Ph-4-CO-O-CO <sub>i</sub> Bu)
104	NH	H	H	S-(Ph-4-COR <sup>10a</sup> )
105	NH	H	H	S-(Ph-4-COR <sup>10b</sup> )
20 106	NH	H	H	S-(2-Naphthyl)
107	NCOMe	MeCO	H	OCOMe
108	NCOMe	MeCO	H	N(COMe) <sub>2</sub>
109	NCO <sub>i</sub> Pr	<sub>i</sub> PrCO	H	NH-CO <sub>i</sub> Pr

25 Beispiel 110

Verbindung der Formel

30



35

1

**Messung der Hemmung der Aktivität gereinigter Stickstoffmonoxid-Synthase (NOS)**

- 5 Bei diesem Aktivitätsassay wird das bei der Bildung von NO durch gereinigte NOS anfallende Koproduct L-Citrullin quantitativ erfaßt. Als Substrat der Enzymreaktion wird <sup>3</sup>H-radiomarkiertes L-Arginin eingesetzt, das zu <sup>3</sup>H-L-Citrullin und NO umgesetzt wird. Nach Beendigung der
- 10 Enzyminkubation wird entstandenes L-Citrullin von unverbrauchtem L-Arginin mittels Ionenaustauschchromatographie aus dem Reaktionsgemisch entfernt; die durch Flüssigkeitsszintillation gemessene <sup>3</sup>H-Aktivität entspricht dann der Menge an L-Citrullin, die ein direktes Maß für die
- 15 Aktivität der NOS ist.

Das Grundmedium für die Durchführung der Enzymreaktion ist TE-Puffer (Triethanolamin, EDTA, pH 7,0). Das Endvolumen jeder Inkubation beträgt 100 µl. Das Reaktions-

20 gemisch wird erhalten, indem die folgenden 6 Komponenten auf Eis gemischt werden:

1. "REA-Mix" (pH 7,0), der Triethanolamin, Calciumchlorid, Magnesiumchlorid, EDTA, L-Arginin, Calmodulin und
- 25 Flavin-Adenin-Dinukleotid (FAD) enthält;
2. frisch zubereitete Stammlösung von β-Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid-Phosphat, reduzierte Form (NADPH);
3. (6R)-5,6,7,8-Tetrahydro-L-Biopterin-Dihydrochlorid-Stammlösung (BH<sub>4</sub>) oder - für Versuche ohne BH<sub>4</sub> - stattdessen TE-Puffer;
- 30 4. gereinigte NO-Synthase aus Schweinekleinhirn oder aus Schweineleber;
5. L-[2,3,4,5-<sup>3</sup>H]-Arginin-Hydrochlorid-Stammlösung (1,5-2,6 TBq/mmol);
- 35 6. zu testende Substanz.

1

Die finalen Konzentrationen der Komponenten im Inkubationsvolumen von 100  $\mu$ l sind:

Triethanolamin 50 mM, EDTA 0,5 mM,  $\text{CaCl}_2$  226  $\mu$ M,  $\text{MgCl}_2$   
5 477  $\mu$ M, L-Arginin 50  $\mu$ M, Calmodulin 0,5  $\mu$ M, FAD 5  $\mu$ M,  
NADPH 1 mM,  $\text{BH}_4$  (wenn zugesetzt) 2  $\mu$ M, zu testende  
Substanz 100  $\mu$ M. Nach dem Mischen der Komponenten auf Eis  
wird der Reaktionsansatz sofort in einem Wasserbad bei  
37°C für 15 Minuten inkubiert. Nach dieser Inkubations-  
10 zeit wird die Reaktion durch Zugabe von 900  $\mu$ l eiskaltem  
"Stoppuffer" (20 mM Natriumacetat, 2 mM EDTA, pH 5,5)  
abgestoppt und der Ansatz (Gesamtvolumen jetzt 1,0 ml)  
auf Eis gestellt. Zur Abtrennung des nicht umgesetzten  
 $^3\text{H}$ -L-Arginins wird das Gemisch auf eine Ionenaustauscher-  
15 säule mit 0,8 ml Dowex AG 50 WX-8 (100-200 mesh) gegeben,  
die zuvor mit 2 ml Stoppuffer gespült und äquilibriert  
wurde. Nach dem Auftragen der Probe wird die Säule zwei-  
mal mit je 1 ml Wasser eluiert. Der Durchlauf der Probe  
und das Eluat werden in Szintillationsgefäßen aufgefangen  
20 und gereinigt (Gesamtvolumen 3 ml). Zu den 3 ml wäßriger  
Meßlösung werden 9 ml Szintillator-Lösung gegeben und die  
homogene Mischung wird in einem Flüssigszintillations-  
zähler Tricarb 2500 TR (Packard) 1 Minute pro Probe ge-  
messen. Die mit der zu testenden Substanz gefundene Akti-  
25 vität wird in Prozent der Aktivität der Kontrolle angege-  
ben. Jede Substanz wird in einer Konzentration von 100  $\mu$ M  
in Anwesenheit von 2  $\mu$ M Tetrahydrobiopterin auf antago-  
nistische Wirkung sowie in Abwesenheit von Tetrahydrobio-  
pterin auf agonistische Wirkung auf die NOS getestet.  
30 Alle Inkubationen werden in Triplikaten angesetzt. Jeder  
Versuch wird dreimal mit verschiedenen Enzympräparationen  
wiederholt. Einige Ergebnisse sind in der folgenden  
Tabelle angegeben.

35

1	Verbindung des Beispiels	Enzym aus	Citrullin-Bildung (% der Kontrolle)
	1	Schweinehirn	61,7
5	21	Schweinehirn	60,8
	23	Schweinehirn	2,5
	37	Schweinehirn	22,9
	60	Schweinehirn	26,2
	76	Schweineleber	22,4
10			

**Beispiel A**

Gelatineweichkapseln, enthaltend 100 mg Wirkstoff pro Kapsel:

15		<b>pro Kapsel</b>
	Wirkstoff	100 mg
	aus Kokosfett fraktioniertes Triclycerid-Gemisch	400 mg
	Kapselinhalt	500 mg

20

**Beispiel B**

Injektionslösung, enthaltend 2,0 mg Wirkstoff pro ml:

		<b>pro ml</b>
	Wirkstoff	2,0 mg
	Polyethylenglycol 400	5,0 mg
25	Natriumchlorid	2,7 mg
	Wasser zu Injektionszwecken	ad 1 ml

30

35



1

**Beispiel C**

Emulsion, enthaltend 60 mg Wirkstoff pro 5 ml:

	pro 100 ml Emulsion
5 Wirkstoff	1,2 g
Neutralöl	q.s.
Natriumcarboxymethylcellulose	0,6 g
Polyoxyethylen-stearat	q.s.
Glycerin rein	0,2 bis 2,0 g
10 Geschmacksstoff	q.s.
Wasser (entsalzt oder destilliert)	ad 100 ml

**Beispiel D**

Rektale Arzneiform, enthaltend 40 mg Wirkstoff pro

15 Suppositorium:

	pro Suppositorium
Wirkstoff	40 mg
Suppositoriengrundmasse	ad 2 g

20 **Beispiel E**

Tabletten, enthaltend 40 mg Wirkstoff pro Tablette:

	pro Tablette
Wirkstoff	40 mg
Lactose	600 mg
25 Maisstärke	300 mg
lösliche Stärke	20 mg
Magnesiumstearat	40 mg
	<hr/>
	1000 mg

30

35

1

**Beispiel F**

Dragees, enthaltend 50 mg Wirkstoff pro Dragee:

	pro Dragee
5 Wirkstoff	50 mg
Maisstärke	100 mg
Lactose	60 mg
sec. Calciumphosphat	30 mg
lösliche Stärke	5 mg
10 Magnesiumstearat	10 mg
kolloidale Kieselsäure	5 mg
	<hr/>
	260 mg

**Beispiel G**

15 Für die Herstellung des Inhalts von Hartgelatine kapseln eignen sich die folgenden Rezepturen:

a) Wirkstoff	100 mg
Maisstärke	300 mg
	<hr/>
	400 mg
20 b) Wirkstoff	140 mg
Milchzucker	180 mg
Maisstärke	180 mg
	<hr/>
	500 mg

25

**Beispiel H**

Tropfen können nach folgender Rezeptur hergestellt werden  
(100 mg Wirkstoff in 1 ml = 20 Tropfen):

Wirkstoff	10 g
30 Benzoessäuremethylester	0,07 g
Benzoessäureethylester	0,03 g
Ethanol 96 %ig	5 ml
entmineralisiertes Wasser	ad 100 ml

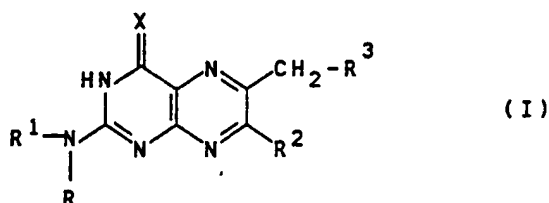
35

1

## P A T E N T A N S P R Ü C H E

1. Verwendung von Pteridin-Derivaten der allgemeinen Formel I,

5



10

in der

X für O, NH oder N-(C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>)-Alkanoyl steht;

15

R für Wasserstoff steht und

R<sup>1</sup> für Wasserstoff oder (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>)-Alkanoyl steht oder  
R und R<sup>1</sup> zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie  
gebunden sind, eine Dimethylaminomethylenaminogruppe  
bilden;

20

R<sup>2</sup> für Wasserstoff, Methyl, Phenyl, Hydroxy, Methoxy  
oder Amino steht;

R<sup>3</sup> für den Rest -OR<sup>4</sup>, -NR<sup>5</sup>R<sup>6</sup> oder -S(O)<sub>m</sub>R<sup>7</sup>, wobei m für  
die Zahlen 0, 1 oder 2 steht, steht;

25

R<sup>4</sup> für Wasserstoff, (C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>)-Alkyl, Cyclohexyl, Benzyl,  
unsubstituiertes oder durch Chlor oder den Rest  
-COR<sup>8</sup> substituiertes Phenyl, unsubstituiertes oder am  
Stickstoff durch einen oder zwei gleiche oder ver-  
schiedene (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-Alkylreste substituiertes Amino-  
carbonylmethyl, 2-Methoxyethyl, den (2,2-Dimethyl-  
1,3-dioxolan-4-yl)methyl-Rest oder den Rest -COR<sup>9</sup>  
steht;

30

R<sup>5</sup> für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, 2-Hydroxyethyl,

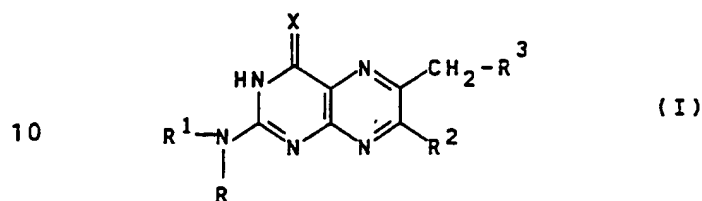
35

- 1 2-Chlorethyl, Benzyl, Pyridylmethyl, Phenylethyl,  
Pyridylethyl oder Acetyl steht;
- 2  $R^6$  unabhängig von der Bedeutung von  $R^5$  für die für  $R^5$   
angegebenen Bedeutungen steht oder, wenn  $R^5$  für
- 5 Wasserstoff oder Methyl steht, auch für Cyclohexyl,  
3-(2-Ethoxyethoxy)propyl, Benzyl, das am Phenylring  
ein oder zwei Chloratome oder den Rest  $-COR^{10}$  trägt,  
( $C_1-C_5$ )-Alkanoyl, den Rest  $-COR^{10}$  oder den Rest  
 $-(CH_2)_4-COR^{10}$  steht;
- 10  $R^7$  für ( $C_1-C_4$ )-Alkyl, Benzyl, unsubstituiertes oder  
durch Chlor, den Rest  $-COR^8$  oder den Rest  
 $-CO-O-CO-(C_1-C_4)$ -Alkyl substituiertes Phenyl oder für  
Naphthyl steht;
- $R^8$  für Hydroxy, Methoxy, Amino oder  $R^{10}$  steht;
- 15  $R^9$  für ( $C_1-C_4$ )-Alkyl, Hydroxymethyl, Trifluormethyl,  
( $C_1-C_2$ )-Alkoxy oder  $R^{11}$  steht;
- $R^{10}$  für den Rest
- 20 
$$\begin{array}{c} COR^{12} \\ | \\ -NH-CH-(CH_2)_2-COR^{12} \end{array} \quad \text{steht;}$$
- $R^{11}$  für den Rest
- $$\begin{array}{c} -CH-NHR^{14} \\ | \\ R^{13} \end{array} \quad \text{steht;}$$
- 25  $R^{12}$  für Hydroxy oder ( $C_1-C_2$ )-Alkoxy steht;
- $R^{13}$  für ( $C_1-C_4$ )-Alkyl oder Benzyl steht;
- $R^{14}$  für Wasserstoff oder Benzyloxycarbonyl steht;
- 30 und ihrer tautomeren Formen sowie ihrer pharmakologisch  
verträglichen Salze zur Vorbeugung und Behandlung von  
Krankheiten, die durch einen erhöhten Stickstoffmonoxid-  
Spiegel bedingt sind.

- 1
2. Verwendung gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß R für Wasserstoff steht und X für O oder NH steht.
- 5 3. Verwendung gemäß Anspruch 1 und/oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß R<sup>1</sup> und/oder R<sup>2</sup> für Wasserstoff steht.
4. Verwendung gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß R<sup>3</sup> für (C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>)-Alkyl-  
10 oxy, Phenyloxy, Amino, Methylamino, Dimethylamino oder den Rest -COR<sup>11</sup> steht, bevorzugt für (C<sub>5</sub>-C<sub>10</sub>)-Alkyloxy, Amino oder den Rest -COR<sup>11</sup>, in dem das in R<sup>11</sup> enthaltene R<sup>14</sup> für Benzyloxycarbonyl und das in R<sup>11</sup> enthaltene R<sup>13</sup> für Methyl, Isopropyl oder Benzyl steht.
- 15 5. Verwendung gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 4 zur Behandlung und Vorbeugung pathologischer Blutdruckabfälle, insbesondere beim septischen Schock und der Tumorthherapie mit Cytokinen.
- 20 6. Verwendung gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 4 zur Behandlung und Vorbeugung von entzündlichen Erkrankungen, insbesondere Colitis ulcerosa.
- 25 7. Verwendung gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 4 zur Behandlung und Vorbeugung von Infarktschäden und/oder Reperfusionsschäden.
8. Verwendung gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1  
30 bis 4 zur Behandlung und Vorbeugung von Transplantat-Abstoßungsreaktionen.
9. Verwendung gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1  
35 bis 4 zur Behandlung und Vorbeugung von Erkrankungen des Nervensystems aus der Reihe Morbus Alzheimer, Epilepsie

1 und Migräne, wobei aber die Behandlung bzw. Vorbeugung  
des Morbus Alzheimer durch Verbindungen der allgemeinen  
Formel I ausgenommen ist, in der  $R^3$  für Hydroxy steht.

5 10. Pteridin-Derivate der allgemeinen Formel I,



in der

- 15 X für O, NH oder N-(C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>)-Alkanoyl steht;  
R für Wasserstoff steht und  
R<sup>1</sup> für Wasserstoff oder (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>)-Alkanoyl steht oder  
R und R<sup>1</sup> zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie  
gebunden sind, eine Dimethylaminomethylenaminogruppe  
20 bilden;  
R<sup>2</sup> für Wasserstoff, Methyl, Phenyl, Hydroxy, Methoxy  
oder Amino steht;  
R<sup>3</sup> für den Rest -OR<sup>4</sup>, -NR<sup>5</sup>R<sup>6</sup> oder -S(O)<sub>m</sub>R<sup>7</sup>, wobei m für  
die Zahlen 0, 1 oder 2 steht, steht;  
25 R<sup>4</sup> für Wasserstoff, (C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>)-Alkyl, Cyclohexyl, Benzyl,  
unsubstituiertes oder durch Chlor oder den Rest  
-COR<sup>8</sup> substituiertes Phenyl, unsubstituiertes oder am  
Stickstoff durch einen oder zwei gleiche oder ver-  
schiedene (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-Alkylreste substituiertes Amino-  
30 carbonylmethyl, 2-Methoxyethyl, den (2,2-Dimethyl-  
1,3-dioxolan-4-yl)methyl-Rest oder den Rest -COR<sup>9</sup>  
steht;

- 1  $R^5$  für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, 2-Hydroxyethyl,  
2-Chlorethyl, Benzyl, Pyridylmethyl, Phenylethyl,  
Pyridylethyl oder Acetyl steht;
- 5  $R^6$  unabhängig von der Bedeutung von  $R^5$  für die für  $R^5$   
angegebenen Bedeutungen steht oder, wenn  $R^5$  für  
Wasserstoff oder Methyl steht, auch für Cyclohexyl,  
3-(2-Ethoxyethoxy)propyl, Benzyl, das am Phenylring  
ein oder zwei Chloratome oder den Rest  $-COR^{10}$  trägt,  
10  $(C_1-C_5)$ -Alkanoyl, den Rest  $-COR^{10}$  oder den Rest  
 $-(CH_2)_4-COR^{10}$  steht;
- $R^7$  für  $(C_1-C_4)$ -Alkyl, Benzyl, unsubstituiertes oder  
durch Chlor, den Rest  $-COR^8$  oder den Rest  
 $-CO-O-CO-(C_1-C_4)$ -Alkyl substituiertes Phenyl oder für  
Naphthyl steht;
- 15  $R^8$  für Hydroxy, Methoxy, Amino oder  $R^{10}$  steht;  
 $R^9$  für  $(C_1-C_4)$ -Alkyl, Hydroxymethyl, Trifluormethyl,  
 $(C_1-C_2)$ -Alkoxy oder  $R^{11}$  steht;  
 $R^{10}$  für den Rest
- 20 
$$\begin{array}{c} COR^{12} \\ | \\ -NH-CH-(CH_2)_2-COR^{12} \end{array} \quad \text{steht;}$$
- $R^{11}$  für den Rest
- 25 
$$\begin{array}{c} -CH-NHR^{14} \\ | \\ R^{13} \end{array} \quad \text{steht;}$$
- $R^{12}$  für Hydroxy oder  $(C_1-C_2)$ -Alkoxy steht;  
 $R^{13}$  für  $(C_1-C_4)$ -Alkyl oder Benzyl steht;  
 $R^{14}$  für Wasserstoff oder Benzyloxycarbonyl steht;
- 30 und ihrer tautomeren Formen sowie ihrer pharmakologisch  
verträglichen Salze, wobei aber Verbindungen der allge-  
meinen Formel I, in der  $R^3$  für Hydroxy steht, ausge-  
schlossen sind, als pharmakologische Wirkstoffe.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 95/01731

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
IPC 6 A61K31/505

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
IPC 6 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DATABASE WPI Section Ch, Week 9414 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class B02, AN 94-111951 & JP-A-06 056 669 ( ASAHI BREWERIES LTD) , 1 March 1994 see abstract	1-10
X	BR. J. OF PHARMACOL., vol. 106, no. 1, 1992 pages 222-226, NETZER T. ET AL 'Effects of a new pteridine derivative on urinary sodium, potassium and magnesium excretion in conscious saline-loaded rats' see page 222, right column; example 2	10
A	---	1-9
	---	
	-/--	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

## \* Special categories of cited documents :

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- \*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- \*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- \*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- \*Z\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

28 September 1995

Date of mailing of the international search report

19. 10. 95

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+ 31-70) 340-3016

Authorized officer

Seegert, K



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 95/01731

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP-A-0 108 890 (THE WELLCOME FOUNDATION LTD.) 23 May 1984 cited in the application see page 8; example VII	10
A	---	1-9
A	CA-A-2 075 346 (CORNELL RESEARCH FOUNDATION INC.) 27 June 1993 see page 10, line 13 - line 20 see page 19, line 4 - line 25; claims 1,3 -----	1-10

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 95/01731

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP-A-108890	23-05-84	AU-B- 572792	19-05-88
		AU-B- 1925683	29-03-84
		DE-A- 3378634	12-01-89
		JP-C- 1828391	15-03-94
		JP-B- 5033229	19-05-93
		JP-A- 59076086	28-04-84
		US-A- 4665182	12-05-87
		US-A- 4701455	20-10-87
CA-A-2075346	27-06-93	JP-A- 5194270	03-08-93

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES IPK 6 A61K31/505		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK		
B. RECHERCHIERTE GEBIETE		
Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole ) IPK 6 A61K		
Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen		
Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)		
C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	DATABASE WPI Section Ch, Week 9414 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class B02, AN 94-111951 & JP-A-06 056 669 ( ASAHI BREWERIES LTD ) , 1.März 1994 siehe Zusammenfassung ---	1-10
X	BR. J. OF PHARMACOL., Bd. 106, Nr. 1, 1992 Seiten 222-226, NETZER T. ET AL 'Effects of a new pteridine derivative on urinary sodium, potassium and magnesium excretion in conscious saline-loaded rats' siehe Seite 222, rechte Spalte; Beispiel 2	10
A	---	1-9
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <span>X Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen</span> <span>X Siehe Anhang Patentfamilie</span> </div>		
<p>* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :</p> <p>'A' Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist</p> <p>'E' älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist</p> <p>'L' Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)</p> <p>'O' Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht</p> <p>'P' Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist</p> <p>'T' Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist</p> <p>'X' Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden</p> <p>'Y' Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist</p> <p>'&amp;' Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist</p>		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche		Absendedatum des internationalen Recherchenberichts
28. September 1995		19. 10. 95
Name und Postanschrift der Internationale Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax (+31-70) 340-3016		Bevollmächtigter Bediensteter  Seegert, K

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	EP-A-0 108 890 (THE WELLCOME FOUNDATION LTD.) 23.Mai 1984 in der Anmeldung erwähnt siehe Seite 8; Beispiel VII	10
A	---	1-9
A	CA-A-2 075 346 (CORNELL RESEARCH FOUNDATION INC.) 27.Juni 1993 siehe Seite 10, Zeile 13 - Zeile 20 siehe Seite 19, Zeile 4 - Zeile 25; Ansprüche 1,3 -----	1-10

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 95/01731

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP-A-108890	23-05-84	AU-B- 572792	19-05-88
		AU-B- 1925683	29-03-84
		DE-A- 3378634	12-01-89
		JP-C- 1828391	15-03-94
		JP-B- 5033229	19-05-93
		JP-A- 59076086	28-04-84
		US-A- 4665182	12-05-87
		US-A- 4701455	20-10-87
-----	-----	-----	-----
CA-A-2075346	27-06-93	JP-A- 5194270	03-08-93
-----	-----	-----	-----